Health Canada Santé Canada

[redacted]

GUIDANCE FOR INDUSTRY

Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals
ICH Topic S1B

[redacted]

Published by authority of the
Minister of Health

[redacted]

Date Adopted by the TPP	1999/12/16
Effective Date	2000/03/24

Therapeutic Products Programme
Guidance Document

Canada

Our mission is to help the people of Canada maintain and improve their health.

Health Canada

Our mission is to ensure that the drug, medical devices, and other therapeutic products available in Canada are safe, effective and of high quality and that narcotic and restricted substances are not abused or diverted from legitimate uses.

Therapeutic Products Programme

THERAPEUTIC PRODUCTS PROGRAMME WEBSITE
(TP-Web)

LET YOUR COMPUTER DO THE SEARCHING!

... Need to know how to market a new drug in Canada?

... Want information on the drug regulatory process?

... Need to know what the newest drugs on the Canadian market are?

... Want direct access to forms and policies?

... Need to know the requirements for labelling drugs?

All this and more is available on the

Therapeutic Products Programme Website
at
www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/therapeut

© Minister of Public Works and Government Services Canada 2000

Available in Canada through
Health Canada - Publications
Brooke Claxton Building, A.L. #0913A
Tunney's Pasture
Ottawa, Ontario
K1A 0K9

Tel: (613) 954-5995
Fax: (613) 941-5366

Également disponible en français sous le titre : Évaluation de la cancérogénicité des produits pharmaceutiques

Catalogue No. H42–2-67-14-1999E
ISBN 0-662-28445-3

FOREWORD

This guidance has been developed by the appropriate ICH Expert Working Group and has been subject to consultation by the regulatory parties, in accordance with the ICH Process. The ICH Steering Committee has endorsed the final draft and recommended its adoption by the regulatory bodies of the European Union, Japan and USA.

In adopting this ICH guidance, the Therapeutic Products Programme (TPP) endorses the principles and practices described therein. This document should be read in conjunction with the accompanying covering letter and with the relevant sections of other applicable Programme guidances.

Guidance documents are meant to provide assistance to industry and health care professionals on **how** to comply with the TPP policies and governing statutes and regulations. They also serve to provide review and compliance guidance to TPP staff, thereby ensuring that the Programme's mandate is implemented in a fair, consistent and effective manner.

Guidance documents are administrative instruments not having force of law and, as such, allow for flexibility in approach. Alternate approaches to the principles and practices described in this document ***may be*** acceptable provided they are supported by adequate scientific justification. Alternate approaches should be discussed in advance with the Programme to avoid the possible finding that applicable statutory or regulatory requirements have not been met.

As a corollary to the above, it is equally important to note that the Programme reserves the right to request information or material, or define conditions not specifically described in this guidance, in order to allow the Programme to adequately assess the safety, efficacy or quality of a therapeutic product. The TPP is committed to ensuring that such requests are justifiable and that decisions are clearly documented.

TABLE OF CONTENTS

1. OBJECTIVE 1

2. BACKGROUND 1

3. SCOPE 2

4. THE GUIDANCE DOCUMENT 2
- *4.1 Preamble* 2
- *4.2 Experimental approaches to testing for carcinogenic potential* 2
  - *4.2.1 Choice of species for a long-term carcinogenicity study* 2
  - *4.2.2 Additional in vivo tests for carcinogenicity* 3
  - *4.2.3 Considerations in the choice of short or medium term tests for carcinogenicity* 3

5. MECHANISTIC STUDIES 3
- *5.1 Cellular changes* 3
- *5.2. Biochemical measurements.* 4
- *5.3. Considerations for additional genotoxicity testing (see Guidances S2A and S2B)* 4
- 5.4. Modified protocols 4

6. GENERAL CONSIDERATIONS IN THE CHOICE OF AN APPROPRIATE SPECIES FOR LONG TERM CARCINOGENICITY TESTING 4
- 6.1. Information from surveys on pharmaceuticals. 4
- *6.2. Potential to study mechanisms* 5
- *6.3. Metabolic disposition* 5
- *6.4. Practicality* 5
- *6.5. Testing in more than one species* 6
- *6.6. Exceptions* 6

7. EVALUATION OF CARCINOGENIC POTENTIAL 6

NOTES 7

ANNEX: Other ICH Guidances Cited 9

1. OBJECTIVE

This document provides guidance on approaches for evaluating the carcinogenic potential of pharmaceuticals.

2. BACKGROUND

Historically, the regulatory requirements for the assessment of the carcinogenic potential of pharmaceuticals in the three regions (E.U., Japan, U.S.) provided for the conduct of long-term carcinogenicity studies in two rodent species, usually the rat and the mouse. Given the cost of these studies and their extensive use of animals, it is in keeping with the mission of ICH to examine whether this practice requiring long term carcinogenicity studies in two species could be reduced without compromising human safety.

This guidance should be read in conjunction with other guidances *(see Annex)*, especially:

S1.A: *Need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals.*
S1.C: *Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals.*

Long-term rodent carcinogenicity studies for assessing the carcinogenic potential of chemicals (including pharmaceuticals) to humans are currently receiving critical examination. Since the early 1970's, many investigations have shown that it is possible to provoke a carcinogenic response in rodents by a diversity of experimental procedures, some of which are now considered to have little or no relevance for human risk assessment. This guidance outlines experimental approaches to the evaluation of carcinogenic potential that may obviate the necessity for the routine conduct of two long-term rodent carcinogenicity studies for those pharmaceuticals that need such evaluation. The relative individual contribution of rat and mouse carcinogenicity studies and whether the use of rats or mice alone would result in a significant loss of information on carcinogenicity relevant to human risk assessment has been addressed by six surveys of the data for human pharmaceuticals. The surveys were those of the International Agency for Research on Cancer (IARC), the U.S. Food and Drug Administration (FDA), the U.S. Physicians' Desk Reference (PDR), the Japanese Pharmaceutical Manufacturers' Association (JPMA), the EU Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP), and the UK Centre for Medicines Research (CMR). The dimensions of these surveys and the principal conclusions of the analyses can be found in the Proceedings of the Third International Conference (1995) on Harmonization.

Positive results in long-term carcinogenicity studies that are not relevant to the therapeutic use of a pharmaceutical present a dilemma to all parties: regulatory reviewers, companies developing drugs and the public at large. The conduct of one long-term carcinogenicity study (rather than two long term studies) would, in part, allow resources to be diverted to other approaches to uncover potential carcinogenicity relevant to humans. A 'weight of evidence' approach, that is use of scientific judgment in evaluation of the totality of the data derived from one long-term carcinogenicity study along with other appropriate experimental investigations, enhances the assessment of carcinogenic risk to humans.

3. SCOPE

The guidance embraces all pharmaceutical agents that need carcinogenicity testing as indicated in Guidance S1A. For biotechnology-derived pharmaceuticals refer to Guidance S6.

4. THE GUIDANCE DOCUMENT

4.1 Preamble

The strategy for testing the carcinogenic potential of a pharmaceutical is developed only after the acquisition of certain key units of information, including the results of genetic toxicology (Guidances S2A and S2B), intended patient population, clinical dosage regimen (Guidance S1A), pharmacodynamics in animals and in humans (selectivity, dose-response) (Guidance S1C), and repeated-dose toxicology studies. Repeated-dose toxicology studies in any species (including nonrodents) may indicate that the test compound possesses immunosuppressant properties, hormonal activity, or other activity considered to be a risk factor for humans, and this information should be considered in the design of any further studies for the assessment of carcinogenic potential *(see also Note 1)*.

4.2 Experimental approaches to testing for carcinogenic potential

Flexibility and judgment should be exercised in the choice of an approach which should be influenced by the information cited in the above preamble. Given the complexity of the process of carcinogenesis, no single experimental approach can be expected to predict the carcinogenic potential of all pharmaceuticals for humans.

The basic principle:

The basic scheme comprises one long-term rodent carcinogenicity study, plus one other study of the type mentioned in §.2.2 that supplements the long term carcinogenicity study and provides additional information that is not readily available from the long term assay.

4.2.1 Choice of species for a long-term carcinogenicity study

The species selected should be appropriate, based on considerations that include the following:

(a) Pharmacology.
(b) Repeated-dose toxicology.
(c) Metabolism (see also Guidances S1C and S3A).
(d) Toxicokinetics (see also Guidances S1C, S3A, and S3B).
(e) Route of administration (e.g., less common routes such as dermal and inhalation).

In the absence of clear evidence favoring one species, it is recommended that the rat be selected. This view is based on the factors discussed in S6.

4.2.2 Additional in vivo tests for carcinogenicity

Additional tests may be either (a) or (b) *(see Note 2)*.

(a) Short or medium-term in vivo rodent test systems.

Possibilities should focus on the use of in vivo models providing insight into carcinogenic endpoints. These may include models of initiation-promotion in rodents, or models of carcinogenesis using transgenic or neonatal rodents *(Note 3)*.

(b) A long-term carcinogenicity study in a second rodent species is still considered acceptable (see §4.2.1 for considerations).

4.2.3 Considerations in the choice of short or medium term tests for carcinogenicity

Emphasis should be placed on selection of, a test method that can contribute information valuable to the overall 'weight of evidence' for the assessment of carcinogenic potential. The rationale for this choice should be documented and based on information available at the time of method selection about the pharmaceutical such as pharmacodynamics and exposure compared to human or any other information that may be relevant. This rationale should include a scientific discussion of the strengths and weaknesses of the method selected for the pharmaceutical *(see Note 4)*.

5. MECHANISTIC STUDIES

Mechanistic studies are often useful for the interpretation of tumor findings in a carcinogenicity study and can provide a perspective on their relevance to human risk assessment. The need for or the design of an investigative study will be dictated by the particular properties of the drug and/or the specific results from the carcinogenicity testing. Dose dependency and the relationship to carcinogenicity study conditions should be evaluated in these investigational studies. Suggestions include:

5.1 Cellular changes

Relevant tissues may be examined for changes at the cellular level using morphological, histochemical, or functional criteria. As appropriate, attention may be directed to such changes as the dose-relationships for apoptosis, cell proliferation, liver foci of cellular alteration, or changes in intercellular communication.

5.2. Biochemical measurements.

Depending on the putative mode of tumorigenic action, investigations could involve measurements of:

- plasma hormone levels, e.g. T3/T4, TSH, prolactin
- growth factors
- binding to proteins such as $\partial 2\mu$-globulin
- tissue enzyme activity, etc.

In some situations, it may be possible to test a hypothesis of, for example, a hormone imbalance with another study in which the imbalance has been, at least in part, compensated.

5.3. Considerations for additional genotoxicity testing (see Guidances S2A and S2B).

Additional genotoxicity testing in appropriate models may be invoked for compounds that were negative in the standard test battery but which have shown effects in a carcinogenicity test with no clear evidence for an epigenetic mechanism. Additional testing can include modified conditions for metabolic activation in in-vitro tests or can include in vivo tests measuring genotoxic damage in target organs of tumor induction (e.g., DNA damage and repair tests, 32P-postlabeling, mutation induction in transgenes).

5.4. Modified protocols

Modified protocols may be helpful to clarify the mode of tumorigenic action of the test substance. Such protocols might include groups of animals to explore, for example, the consequence of interrupted dosage regimens, or the reversibility of cellular changes after cessation of dosing.

6. GENERAL CONSIDERATIONS IN THE CHOICE OF AN APPROPRIATE SPECIES FOR LONG TERM CARCINOGENICITY TESTING

There are several general considerations which, in the absence of other clear indications, suggest that the rat will normally be the species of choice for a long term carcinogenicity study.

6.1. Information from surveys on pharmaceuticals.

In the six analyses, attention was given to data on genetic toxicology, tumor incidence, strain of animal, route and dosage regimen, pharmacological or therapeutic activity, development and/or regulatory status, and, if relevant, reason for termination of development. Inevitably, there was considerable overlap of the data, but that is not necessarily an impediment to drawing valid conclusions.

The main overall conclusions from the analysis were:

a. Although very few instances have been identified of mouse tumors being the sole reason for regulatory action concerning a pharmaceutical, data from this species may have contributed to a 'weight of evidence' decision and in identifying agents that caused tumors in two rodent species.

b. Of the compounds displaying carcinogenic activity in only one species, the number of "rat-only" compounds was about double the number of "mouse-only" compounds, implying in a simplistic sense that the rat is more "sensitive" than the mouse.

c. As with other surveys accessible in the literature, the data for pharmaceuticals were dominated by the high incidence of rodent liver tumors. The high susceptibility of mouse liver to nongenotoxic chemicals has been the subject of many symposia and workshops. These have concluded that these tumors may not always have relevance to carcinogenic risk in humans and can potentially be misleading.

6.2. Potential to study mechanisms

The carcinogenic activity of nongenotoxic chemicals in rodents is characterized by a high degree of species, strain, and target organ specificity and by the existence of thresholds in the dose-response relationship. Mechanistic studies in recent years have permitted the distinction between effects that are specific to the rodent model and those that are likely to have relevance for humans. Progress has often been associated with increased understanding of species and tissue specificity. For example, receptor-mediated carcinogenesis is being recognized as of growing importance. Most of these advances are being made in the rat, and only rarely in the mouse.

6.3. Metabolic disposition

Neither rats nor mice would seem, on metabolic grounds, to be *a priori* generally more suitable for the conduct of long term carcinogenicity studies. However, much attention is now being given to pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships and rapid progress is occurring in knowledge of the P-450 isozymes that mediate the biotransformation of drugs. Most of this research activity is confined to rats and humans. Therefore, in the near future at least, where specific information on the P450 isozymes involved in biotransformation is critical for the evaluation it appears that mice would be less likely to provide this mechanistic information.

6.4. Practicality

Pertinent to the above two topics is the question of feasibility of investigative studies. Size considerations alone put the mouse at a severe disadvantage when it comes to the taking of serial blood samples, microsurgery/catheterization, and the weighing of organs. Blood sampling often requires the sacrifice of the animals, with the result that many extra animals may be needed when mice are subject to such investigations.

6.5. Testing in more than one species

Most of the currently available short and medium term in vivo models for carcinogenicity testing involve the use of mice. In order to allow testing in more than one species for carcinogenic potential, when this is considered important and appropriate, the rat will often be used in the long term carcinogenicity study.

6.6. Exceptions

Despite the above considerations, there may be circumstances under which the mouse or another rodent species could be justified on mechanistic, metabolic, or other grounds as being a more appropriate species for the long term carcinogenicity study for human risk assessment (c.f. §4.2.1). Under such circumstances it may still be acceptable to use the mouse as the short term or medium term model.

7. EVALUATION OF CARCINOGENIC POTENTIAL

Evidence of tumorigenic effects of the drug in rodent models should be evaluated in light of the tumor incidence and latency, the pharmacokinetics of the drug in the rodent models as compared to humans, and data from any ancillary or mechanistic studies that are informative with respect to the relevance of the observed effects to humans.

The results from any tests cited above should be considered as part of the overall 'weight of evidence" taking into account the scientific status of the test systems.

NOTES

Note 1. Data from in vitro assays, such as a cell transformation assay, can be useful at the compound selection stage.

Note 2. If the findings of a short or long-term carcinogenicity study and of genotoxicity tests and other data indicate that a pharmaceutical clearly poses a carcinogenic hazard to humans, a second carcinogenicity study would not usually be useful.

Note 3. Several experimental methods are under investigation to assess their utility in carcinogenicity assessment. Generally, the methods should be based on mechanisms of carcinogenisis that are believed relevant to humans and applicable to human risk assessment. Such studies should supplement the long term carcinogenicity study and provide additional information that is not readily available from the long term assay. There should also be consideration given animal numbers, welfare and the overall economy of the carcinogenic evaluation process. The following is a representative list of some approaches that may meet these criteria and is likely to be revised in the light of further information.

(a) The initiation-promotion model in rodent. One initiation-promotion model for the detection of hepatocarcinogens (and modifiers of hepatocarcinogenicity) employs an initiator, followed by several weeks of exposure to the test substance. Another multi-organ carcinogenesis model employs up to five initiators followed by several months of exposure to the test substance.

(b) Several transgenic mouse assays including the p53+/- deficient model, the Tg.AC model, the TgHras2 model, the XPA deficient model, etc.

(c) The neonatal rodent tumorigenicity model.

Note 4. While there may be a number of approaches that will in general meet the criteria described in *Note 3* for use as the additional in vivo study, not all may be equally suitable for a particular pharmaceutical. The following are examples of factors that should be considered and addressed in the rationale:

1. Can results from the model provide new information not expected to be available from the long-term study that is informative with respect to hazard identification and/or risk assessment?

2. Can results from the model address concerns related to the carcinogenic process arising from prior knowledge of the pharmaceutical or compounds with similar structures and/or mechanisms of action? These concerns may include genotoxic, mitogenic, promotional, or receptor-mediated effects, etc.

3. Does the metabolism of the pharmaceutical shown in the animal model affect the evaluation of carcinogenic risk for humans?

4. Is adequate systemic or local exposure attained in relation to human exposure?

5. How extensively has the model been evaluated for its intended use? Prior to using any new *in vivo* methods in testing the carcinogenic potential of pharmaceuticals for humans, it is critical that the method be evaluated for its ability to contribute to the weight of evidence assessment. Many experimental studies are in progress (1997) to evaluate the new short or medium tests for carcinogenic potential. These include selected pharmaceuticals with known potencies and known mechanism of carcinogenic activity in rodents, and also putative human noncarcinogens. When the results of these studies become available, it may be possible to offer clearer guidance on which of these tests have the most relevance for cancer assessment in humans.

ANNEX: Other ICH Guidances Cited

Guidance S2A:	Notes for Guidance on Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests
Guidance S2B:	A Standard Battery of Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals
Guidance S3A:	Notes for Guidance on Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies
Guidance S3B:	Guidance on Repeat-Dose Tissue Distribution Studies
Guidance S6:	Preclinical Testing of Biotechnology-derived Pharmaceuticals

Santé Canada Health Canada

LIGNE DIRECTRICE À L'INTENTION DE L' INDUSTRIE

Évaluation de la cancérogénicité des produits pharmaceutiques

ICH thème S1B

Publication autorisée par le ministre de la Santé

Date d'approbation par le PPT	1999/12/16
Date d'entré en vigueur par le PPT	2000/03/24

Programme des produits thérapeutiques

Canada

Notre Mission est d'aider les Canadiens et les Canadiennes à maintenir et à améliorer leur état de santé.

Santé Canada

Notre Mission: Faire en sorte que les médicaments, les instruments médicaux et les autres produits thérapeutiques disponibles au Canada soient sûrs, efficaces et de grande qualité et que les stupéfiants et drogues d'usage restreint ne fassent l'objet d'aucun abus et ne soient pas détournés de leurs usages légitimes.

Programme des produits thérapeutiques

LE SITE WEB DU PROGRAMME DES PRODUITS THÉRAPEUTIQUES (Web-PT)

LAISSEZ VOTRE ORDINATEUR FAIRE LES RECHERCHES!

...Vous voulez savoir comment commercialiser un nouveau médicament?

...Vous souhaitez obtenir des renseignements au sujet du processus de réglementation des médicaments?

...Vous voulez connaître quels sont les médicaments les plus récemment autorisés au Canada?

...Vous souhaitez avoir un accès direct à nos formulaires et à nos politiques?

...Vous voulez connaître sont les contraintes en matière d' étiquetage des médicaments?

Vous pouvez obtenir ces renseignements et plusieurs autres en consultant

le site web du programme des produits thérapeutiques
à
www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/therapeut

© Ministre, Travaux publics et services gouvernementaux Canada 2000

Disponible au Canada par l'entremise de
Santé Canada - Publications
Edifice Brooke Claxton, L. A. #0913A
Pré Tunney
OTTAWA (Ontario)
K1A 0K9

téléphone : (613) 954-5995
télécopieur : (613) 941-5366

also available in English under the following Title: Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals

N° de catalogue H42–2/67-14-1999F
ISBN 0-662-84255-3

AVANT-PROPOS

La présente ligne directrice a été élaborée par un groupe d'experts de l'ICH et a fait l'objet de consultations, menées par les organismes de réglementation, conformément au processus de l'ICH. Le Comité directeur de l'ICH en a approuvé la version finale et en a recommandé l'adoption par les organismes de réglementation de l'Union européenne, du Japon et des États-Unis.

En adoptant cette ligne directrice de l'ICH, le Programme des produits thérapeutiques (PPT) fait siens les principes et les pratiques qui y sont énoncés. Ce document doit être lu en parallèle avec la lettre d'accompagnement et les sections pertinentes des autres lignes directrices applicables du Programme.

Les lignes directrices sont des documents destinés à guider l'industrie et les professionnels de la santé sur la **façon** de se conformer aux politiques du PPT et aux lois et règlements qui régissent leurs activités. Elles servent également de guide au personnel du PPT lors de l'évaluation et de la vérification de la conformité et permettent ainsi d'appliquer le mandat du Programme d'une façon équitable, uniforme et efficace.

Les lignes directrices sont des outils administratifs n'ayant pas de force de loi, ce qui permet une certaine souplesse d'approche. Les principes et les pratiques énoncés dans le présent document **pourraient être** remplacés par d'autres approches, à condition que celles-ci s'appuient sur une justification scientifique adéquate. Ces autres approches devraient être examinées préalablement en consultation avec le Programme pour s'assurer qu'elles respectent les exigences des lois et des règlements applicables.

Corollairement à ce qui précède, il importe également de mentionner que le Programme se réserve le droit de demander des renseignements ou du matériel supplémentaire, ou de définir des conditions dont il n'est pas explicitement question dans la ligne directrice, et ce, afin d'être en mesure d'évaluer adéquatement l'innocuité, l'efficacité ou la qualité d'un produit thérapeutique donné. Le PPT s'engage à justifier de telles demandes et à documenter clairement ses décisions.

TABLE DES MATIÈRES

1. OBJECTIF 1

2. CONTEXTE 1

3. PORTÉE 2

4. LES LIGNES DIRECTRICES 2
   4.1 Préambule 2
   4.2 Approches expérimentales applicables à l'évaluation du potentiel cancérogène 3
   4.2.1 Choix de l'espèce pour l'étude de la cancérogénicité à long terme 3
   4.2.2 Autres épreuves de cancérogénicité in vivo 3
   4.2.3 Considérations entrant dans le choix des épreuves d'évaluation de la cancérogénicité à moyen ou à court terme 4

5. ÉTUDE DES MÉCANISMES D'ACTION 4
   5.1 Changements cellulaires 4
   5.2. Paramètres biochimiques 4
   5.3. Considérations sur l'opportunité d'une évaluation complémentaire de la génotoxicité 5
   5.4. Protocoles modifiés 5

6. CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES CONCERNANT LE CHOIX DE L'ESPÈCE POUR L'ÉVALUATION DE LA CANCÉROGÉNICITÉ À LONG TERME 5
   6.1. Information tirée des études sur les produits pharmaceutiques 5
   6.2. Possibilités de caractérisation des mécanismes 6
   6.3. Disposition métabolique 6
   6.4. Faisabilité 7
   6.5. Évaluation chez plus d'une espèce 7
   6.6. Exceptions 7

7. ÉVALUATION DU PONTENTIEL CANCÉROGÈNE 7

REMARQUES 8

ANNEXE : Les Lignes Directrices de l' ICH mentionnées 10

1. OBJECTIF

La présente ligne directrice concerne des approches utilisées pour l'évaluation de la cancérogénicité des produits pharmaceutiques.

2. CONTEXTE

Jusqu'ici, en vertu de la réglementation en vigueur dans les trois régions participantes (Union européenne, Japon et États-Unis), l'évaluation de la cancérogénicité des produits pharmaceutiques a supposé l'étude à long terme des propriétés cancérogènes des produits en question chez deux espèces de rongeurs, habituellement le rat et la souris. Or, vu le coût élevé de ce genre d'études et le grand nombre d'animaux qu'elles nécessitent, il relève du mandat de l'ICH de déterminer s'il est possible de réduire l'utilisation de deux espèces animales pour l'évaluation de la cancérogénicité et ce, sans qu'il en découle un danger pour l'humain.

En prenant connaissance de la présente ligne directrice, on se reportera aux autres lignes directrices de l'ICH (*voir l'Annexe*) et notamment aux suivantes :

S1.A : *Nécessité des études sur la carcinogénicité des produits pharmaceutiques*
S1.C : *Sélection des doses pour les études de carcinogénicité des produits pharmaceutiques*

L'étude de la cancérogénicité à long terme des produits chimiques (y compris les produits pharmaceutiques) qu'on réalise chez les rongeurs pour évaluer le potentiel cancérogène des produits en question chez l'humain fait actuellement l'objet d'un examen approfondi. Bon nombre de travaux effectués depuis le début des années 1970 ont montré qu'il est possible de provoquer une réaction cancérogène chez les rongeurs par toute une gamme de méthodes expérimentales, dont certaines nous apparaissent maintenant ne revêtir qu'un intérêt lointain, sinon nul, aux fins de l'évaluation des risques pour l'humain. Dans la présente ligne directrice, il est question de méthodes pouvant permettre d'évaluer le potentiel cancérogène de produits pharmaceutiques sans qu'il soit nécessaire d'en étudier les propriétés cancérogènes chez deux espèces de rongeurs comme on l'a toujours fait jusqu'ici. Six analyses des données recueillies sur les produits pharmaceutiques à usage humain ont été effectuées : il s'agissait d'évaluer l'apport relatif des études du rat et de la souris dans l'évaluation de la cancérogénicité des produits chimiques et de déterminer s'il est possible de n'étudier qu'une seule espèce sans risquer de perdre une part importante de l'information nécessaire à l'évaluation des risques d'effets cancérogènes pour l'humain. Ces travaux nous viennent du Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), de la Food and Drug Administration (FDA) (États-Unis), de la Physicians' Desk Reference (PDR) (États-Unis), de la Japanese Pharmaceutical Manufacturers' Association (JPMA), du Comité des spécialités pharmaceutiques (CSP) (UE) et du

Centre for Medicines Research (CMR) (R.-U.). Les dimensions de ces études et les principales conclusions auxquelles elles ont mené sont décrites dans le compte rendu de la Troisième conférence internationale sur l'harmonisation (1995).

Dans les études à long terme, on observe parfois des réactions cancérogènes sans lien avec l'usage thérapeutique auquel le produit évalué est destiné : ce genre de réactions posent un dilemme à tous les intéressés, soit les autorités de réglementation, la population en général et les entreprises pharmaceutiques. En limitant l'étude de la cancérogénicité à une évaluation à long terme (au lieu de deux), on libérerait en partie des ressources pour d'autres approches susceptibles de nous éclairer sur des phénomènes cancérogènes pouvant se produire chez l'humain. L'approche dite du «poids de l'évidence », c'est-à-dire l'appréciation de l'ensemble des données de cancérogénicité à long terme et autres informations pertinentes à la lumière du jugement scientifique, ne peut être qu'une amélioration dans l'évaluation du risque cancérogène pour l'humain.

3. PORTÉE

La présente ligne directrice vise tous les produits pharmaceutiques dont les propriétés cancérogènes doivent être évaluées en vertu de la ligne directrice S1A. Pour les produits pharmaceutiques fabriqués par des procédés biotechnologiques, on se reportera à la ligne directrice S6.

4. LES LIGNES DIRECTRICES

4.1 Préambule

Afin d'arrêter la stratégie à suivre pour évaluer le potentiel cancérogène d'un produit pharmaceutique, il faut certains éléments d'information déterminants : ainsi, il faut connaître les propriétés génotoxiques du produit (lignes directrices S2A et S2B), la population visée, la posologie clinique (ligne directrice S1A), les propriétés pharmacodynamiques chez les animaux et chez l'humain (sélectivité, relation dose-réponse) (ligne directrice S1C) et les résultats des études de toxicologie à doses répétées. Ces dernières, quelle que soit l'espèce étudiée (y compris les rongeurs), peuvent révéler que le composé possède des propriétés immunosuppressives, hormonales ou autres représentant un facteur de risque pour l'humain, un fait dont il faut tenir compte dans la préparation des études de cancérogénicité (*voir également la remarque 1*).

4.2 Approches expérimentales applicables à l'évaluation du potentiel cancérogène

Dans le choix d'une approche expérimentale, il faut faire preuve de souplesse et de jugement et tenir compte des éléments d'information signalés ci-dessus. La cancérogenèse est un processus complexe et, aux fins de l'évaluation du potentiel cancérogène, aucune approche ne peut convenir pour tous les produits pharmaceutiques à usage humain.

Principe de base

Le plan de base prévoit une étude de la cancérogénicité à long terme chez un rongeur et, en complément, pour obtenir l'information que ces premiers travaux n'apportent pas facilement, une étude de l'un des deux types décrits à la rubrique 4.2.2.

4.2.1 Choix de l'espèce pour l'étude de la cancérogénicité à long terme

L'espèce expérimentale doit notamment être choisie en fonction des considérations suivantes :

a) Pharmacologie
b) Toxicité à doses répétées
c) Métabolisme (voir aussi les lignes directrices S1C et S3A)
d) Toxicocinétique (voir aussi les lignes directrices S1C, S3A et S3B)
e) Voie d'administration (p. ex. lorsqu'elle est moins courante, comme l'administration par voie cutanée ou par inhalation).

Si rien n'oriente clairement le choix vers une espèce plutôt qu'une autre, on recommande d'utiliser le rat. Cette recommandation est fondée sur les considérations énoncées à la rubrique 6.

4.2.2 Autres épreuves de cancérogénicité in vivo

D'autres épreuves (a ou b) peuvent s'ajouter (*voir la remarque 2*).

a) Évaluation *in vivo* à moyen ou à court terme chez des modèles de rongeurs.

Il faut considérer avant tout les modèles d'évaluation *in vivo* pouvant apporter de l'information sur les phénomènes cancérogènes. Il peut s'agir de rongeurs chez lesquels on étudie l'initiation et la promotion du processus, ou de sujets transgéniques ou nouveau-nés chez lesquels on suivra la cancérogenèse (*remarque 3*).

b) L'étude à long terme du processus cancérogène chez une deuxième espèce de rongeur demeure une possibilité acceptable (voir 4.2.1).

4.2.3 Considérations entrant dans le choix des épreuves d'évaluation de la cancérogénicité à moyen ou à court terme

Il faut chercher une méthode pouvant apporter de l'information contribuant de façon utile au « poids de l'évidence » globale aux fins de l'évaluation de la cancérogénicité. Le choix doit être étayé par des éléments documentaires et sur ce qu'on connaît du produit pharmaceutique considéré, par exemple, sur ce qu'on sait de ses propriétés pharmacodynamiques et de l'exposition par rapport à l'humain, ainsi que sur toute autre donnée susceptible d'être utile. La démarche doit comprendre une analyse scientifique des avantages et des inconvénients que présente la méthode en considération du produit pharmaceutique à évaluer *(voir la remarque 4)*.

5. ÉTUDE DES MÉCANISMES D'ACTION

L'étude des mécanismes d'action est souvent utile pour interpréter les phénomènes tumorigènes observés dans une étude de cancérogénicité et peut aider à déterminer si les phénomènes en question présentent de l'intérêt pour l'évaluation du risque pour l'humain. D'après les propriétés propres au médicament considéré et (ou) les résultats de l'épreuve de cancérogénicité, on déterminera s'il y a lieu de faire une étude approfondie et, le cas échéant, suivant quel plan conduire cette étude.

Cette évaluation doit permettre d'examiner, s'il y a lieu, les phénomènes liés à la dose, ainsi que les relations pouvant exister avec les conditions de réalisation de l'évaluation de la cancérogénicité. On suggère notamment d'examiner les points suivants :

5.1 Changements cellulaires

On peut chercher à voir, d'après des critères morphologiques, histochimiques ou fonctionnels, si des changements cellulaires sont survenus dans les tissus susceptibles d'être touchés. Selon le cas, on étudiera les changements que présentent les relations liées à la dose pour voir s'ils dénotent des phénomènes d'apoptose ou de prolifération cellulaire, des foyers d'altération cellulaire hépatique ou des changements touchant la communication intercellulaire.

5.2. Paramètres biochimiques

Selon le mode d'action tumorigène présumé, l'étude porte sur les paramètres suivants :

- hormones plasmatiques, p. ex. T3/T4, TSH, prolactine
- facteurs de croissance
- liaison avec des protéines comme la $\partial 2\mu$-globuline
- activité enzymatique tissulaire, etc.

Dans certaines situations, il peut être possible de tester une hypothèse comme, par exemple, celle d'un déséquilibre hormonal, au moyen d'une autre étude où le déséquilibre a été corrigé, au moins en partie.

5.3. Considérations sur l'opportunité d'une évaluation complémentaire de la génotoxicité *(voir les lignes directrices S2A et S2B)*

On peut envisager une évaluation complémentaire de la génotoxicité au moyen de modèles appropriés pour les produits qui ont donné des résultats négatifs dans la batterie de tests normalisés, mais qui ont déterminé des réactions dans le test de cancérogénicité, sans qu'un mécanisme épigénétique soit nettement mis en évidence. Les épreuves additionnelles peuvent notamment porter sur des conditions modifiées pouvant influer sur l'activation métabolique *in vitro* ou sur les manifestations génotoxiques *in vivo* dans les organes cibles où apparaissent les tumeurs (p. ex. épreuves permettant d'évaluer les lésions et la réparation de l'ADN, épreuves avec post-marquage au 32P ou avec induction de mutations dans des transgènes).

5.4. Protocoles modifiés

Les protocoles modifiés peuvent apporter des éclaircissements sur le mode d'action tumorigène de la substance considérée. Il peut s'agir d'études portant sur des groupes d'animaux chez lesquels on examine, par exemple, les conséquences de l'interruption de l'administration du produit ou la réversibilité des changements cellulaires après l'arrêt du traitement.

6. CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES CONCERNANT LE CHOIX DE L'ESPÈCE POUR L'ÉVALUATION DE LA CANCÉROGÉNICITÉ À LONG TERME

Pour plusieurs raisons d'ordre général, le rat est normalement l'espèce de choix pour l'évaluation de la cancérogénicité à long terme lorsque rien ne désigne clairement une autre espèce.

6.1. Information tirée des études sur les produits pharmaceutiques

Dans les six analyses considérées, on s'est intéressé aux données concernant la génotoxicité, l'incidence des tumeurs, les souches animales utilisées, les voies d'administration et les doses, l'activité pharmacologique ou thérapeutique, l'avancement du travail de mise au point et (ou) la réglementation du produit, et, si celui-ci a été abandonné en cours de mise au point, on a examiné les raisons motivant l'abandon des travaux. Bien des données se recoupaient, ce qui était inévitable mais n'a pas empêché de parvenir à des conclusions valables.

Les principales conclusions générales des analyses se lisent comme suit :

a) Bien que, pour quelques rares produits pharmaceutiques, l'observation de tumeurs chez la souris ait été la seule raison d'appliquer certaines dispositions de la réglementation, les données recueillies par l'étude de cette espèce ont pu contribuer au « poids de l'évidence » et aider à repérer des agents causant l'apparition de tumeurs chez deux espèces de rongeurs.

b) Sur l'ensemble des composés déterminant une action cancérogène chez une seule espèce, ceux dont l'activité cancérogène ne s'est exercée que chez le rat étaient à peu près deux fois plus nombreux que ceux dont l'action cancérogène ne s'est exercée que chez la souris, ce qui suppose que, si l'on simplifie, le rat est plus « sensible » que la souris.

c) Comme dans d'autres études publiées, les données relatives aux effets des produits pharmaceutiques dénotaient la prédominance d'une forte incidence de tumeurs au foie chez les rongeurs. La grande sensibilité du foie de la souris aux produits chimiques non génotoxiques a été examinée dans un grand nombre de symposium et d'ateliers : ces travaux ont permis de conclure que ces tumeurs n'ont peut-être pas toujours de signification au point de vue du risque cancérogène pour l'humain et peuvent parfois induire en erreur.

6.2. Possibilités de caractérisation des mécanismes

Chez les rongeurs, l'activité cancérogène des produits chimiques non génotoxiques se caractérise par une grande spécificité par rapport à l'espèce, à la souche et au organes cibles, ainsi que par les seuils qui ponctuent la relation dose-réponse. Ces dernières années, les travaux consacrés aux mécanismes d'action ont permis de faire la distinction entre les effets spécifiques aux rongeurs et ceux qui sont susceptibles de se voir aussi chez l'humain. Bien des progrès ont découlé de l'avancement des connaissances sur la spécificité des effets par rapport à l'espèce ou au tissu. Ainsi, l'importance de la médiation assurée par les récepteurs dans la cancérogenèse est de plus en plus reconnue. La plupart des progrès accomplis jusqu'ici à cet égard résultent d'études portant sur le rat, rarement sur la souris.

6.3. Disposition métabolique

À prime abord, au point de vue métabolique, ni le rat ni la souris ne semble plus généralement adéquat pour l'étude de la cancérogénicité à long terme. Depuis quelque temps, toutefois, les chercheurs s'intéressent considérablement aux relations pharmacocinétiques et pharmacodynamiques, si bien que nous en apprenons chaque jour beaucoup sur les isoenzymes P-450, éléments qui remplissent une fonction de médiation dans la biotransformation des médicaments. La plus grande partie de la recherche effectuée sur cette question porte sur le rat ou

sur l'humain. Ainsi, dans l'avenir immédiat au moins, on peut entrevoir que, lorsque l'information touchant les isoenzymes P-450 mises en jeu dans la biotransformation sera déterminante pour l'évaluation d'un produit, cette information ne proviendra pas de l'étude de la souris.

6.4. Faisabilité

La faisabilité d'études approfondies sur les deux aspects décrits ci-dessus est une considération à laquelle il y a lieu de s'arrêter. La souris, simplement en raison de sa taille, présente d'importants inconvénients pour les travaux nécessitant des prises de sang multiples, de la microchirurgie et des cathétérismes ainsi que la pesée des organes. Souvent, pour les prélèvements de sang, il faut sacrifier les animaux, ce qui peut obliger à utiliser un nombre élevé de sujets additionnels lorsque l'étude porte sur la souris.

6.5. Évaluation chez plus d'une espèce

Actuellement, la plupart des épreuves de cancérogénicité *in vivo* à court ou à moyen terme sont réalisées avec des souris. Souvent, lorsqu'on estime indiqué et important d'évaluer la cancérogénicité chez plus d'une espèce, on utilise le rat pour l'étude à long terme.

6.6. Exceptions

Ceci dit, dans certaines circonstances, l'utilisation de la souris ou d'une autre espèce de rongeur peut être préférable, pour des raisons liées au mécanisme d'action, au métabolisme ou à d'autres facteurs, dans l'étude de la cancérogénicité à long terme en vue de l'évaluation du risque cancérogène pour l'humain (voir 4.2.1). Le cas échéant, il peut aussi être acceptable d'utiliser la souris pour les épreuves à court ou à moyen terme.

7. ÉVALUATION DU PONTENTIEL CANCÉROGÈNE

Il convient d'évaluer les effets tumorigènes du médicament chez les rongeurs à la lumière des données recueillies sur l'incidence et la période de latence des tumeurs, sur les caractéristiques pharmacocinétiques comparatives du médicament chez les rongeurs et chez l'humain ainsi que sur les mécanismes d'action, ou tout autre aspect évalué dans les études complémentaires, pouvant aider à déterminer si les effets observés chez l'animal sont indicatifs de ce qui peut survenir chez l'humain.

Les résultats des études décrites ci-dessus contribuent au « poids de l'évidence » globale et doivent être considérés en fonction de la qualité scientifique des méthodes utilisées.

REMARQUES

Remarque 1. Les résultats des épreuves *in vitro* (comme, par exemple, l'épreuve de la transformation cellulaire) peuvent être utiles à l'étape de la sélection du composé.

Remarque 2. Lorsque les résultats de l'étude de cancérogénicité à court ou à long terme et des épreuves de génotoxicité, ainsi que d'autres données, montrent clairement que le médicament considéré pose un risque cancérogène pour l'humain, il n'est habituellement pas utile de faire une deuxième étude de cancérogénicité

Remarque 3. On est actuellement à déterminer l'utilité d'un certain nombre de méthodes expérimentales pour l'évaluation de la cancérogénicité. En général, les méthodes utilisées doivent être axées sur des mécanismes de cancérogenèse supposés indicatifs des phénomènes pouvant survenir chez l'humain et utilisables pour l'évaluation du risque cancérogène pour l'humain. Ce genre d'études devraient compléter l'étude de la cancérogénicité à long terme et apporter les données additionnelles qu'il n'est pas facile d'obtenir par une évaluation à long terme. Il faut aussi tenir compte du nombre d'animaux nécessaires, de leur bien-être et de l'économie globale du processus d'évaluation. Ci-après figurent certaines des approches pouvant remplir ces conditions; cette liste changera probablement à mesure que de nouvelles informations seront recueillies.

a) Modèle d'initiation-promotion chez le rat. Dans un modèle d'initiation-promotion servant à mettre en évidence les produits hépatocancérogènes (et les facteurs modifiant l'hépatocancérogénicité) les sujets reçoivent un traitement initiateur, puis sont exposés plusieurs semaines à la substance étudiée. Dans un modèle de cancérogenèse à organes multiples, les sujets peuvent recevoir jusqu'à cinq facteurs initiateurs, puis sont exposés plusieurs mois à la substance évaluée.

b) Divers modèles de souris transgéniques tels que le modèle à déficience en p53+/-, le modèle Tg.AC, le modèle TgHras2 et le modèle à déficience en XPA etc.

c) Modèle de rongeur à tumorigénicité néonatale.

Remarque 4. En général, diverses approches remplissent les conditions énoncées dans la remarque précédente pour décrire l'étude *in vivo* additionnelle, mais elles ne conviennent pas nécessairement toutes au même degré pour un produit pharmaceutique donné. Les facteurs énumérés ci-dessous sont des exemples des points à considérer à cet égard :

1. Le modèle peut-il apporter de l'information nouvelle que l'étude à long terme ne fournit vraisemblablement pas sur les dangers et (ou) pour l'évaluation des risques?

2. Le modèle peut-il apporter des résultats utiles pour répondre aux questions sur le processus cancérogène que soulèvent les connaissances acquises antérieurement sur le produit pharmaceutique considéré ou sur des composés de structure et (ou) de mécanisme d'action comparables? Les questions peuvent notamment concerner les effets génotoxiques, mitogéniques, promoteurs ou relayés par des récepteurs, etc.

3. Les propriétés métaboliques du produit pharmaceutique chez le modèle animal influent-elles sur l'évaluation du risque cancérogène pour l'humain?

4. L'exposition, générale ou locale, est-elle suffisante chez l'animal par rapport à ce qu'elle peut être pour l'humain?

5. Dans quelle mesure le modèle a-t-il été évalué en considération de l'usage qu'on en fait? Avant d'utiliser une nouvelle méthode pour évaluer *in vivo* le potentiel cancérogène des produits pharmaceutiques pour l'humain, il est indispensable de déterminer si la méthode peut apporter de l'information contribuant de façon utile au <<poids de l'évidence>>. Dans bon nombre d'études expérimentales en cours (1997), on évalue les nouvelles épreuves de cancérogénicité à court terme et à moyen terme. On se sert dans ces travaux de produits pharmaceutiques dont on connaît le potentiel cancérogène et les mécanismes d'action chez les rongeurs, de même que de produits présumés non cancérogènes pour l'humain. Lorsque les résultats de ces études seront publiés, il sera peut-être possible de préciser quelles épreuves sont les plus utiles pour l'évaluation des propriétés cancérogènes pour l'humain.

ANNEXE : Les Lignes Directrices de l' ICH mentionnées

Ligne Directrice S2A:	Essais réglementaires de génotoxicité des produits pharmaceutiques : aspects particuliers
Ligne Directrice S2B:	Génotoxicité: Batterie d'épreuves normalisées pour l'évulation de la génotoxicité des produits pharmaceutiques
Ligne Directrice S3A:	Ligne Directrice de toxicocinétique: Évaluation de l'exposition systémique dans les études de toxicité
Ligne Directrice S3B:	Pharmacocinétique : Ligne Directrice sur les études de diffusion tissulaire à doses répétées
Ligne Directrice S6:	Évaluation au stade préclinique de innocuité des produits pharmaceutiques issus de la biotechnologie